



UNIVERSITAT  
POLITECNICA  
DE VALÈNCIA

# Determinación del contenido en Nitrógeno Básico Volátil Total (NBVT) en pescado fresco

|                          |  |
|--------------------------|--|
| <b>Apellidos, nombre</b> | Fuentes López, Ana ( <a href="mailto:anfuelo@upv.es">anfuelo@upv.es</a> )<br>García Martínez, Eva ( <a href="mailto:evamargar@tal.upv.es">evamargar@tal.upv.es</a> )<br>Fernández Segovia, Isabel ( <a href="mailto:isferse1@tal.upv.es">isferse1@tal.upv.es</a> ) |
| <b>Departamento</b>      | Tecnología de Alimentos  |
| <b>Centro</b>            | Universidad Politécnica de Valencia  |



## 1 Resumen de las ideas clave

La determinación de bases volátiles totales es uno de los métodos más utilizados para evaluar de la calidad de los productos pesqueros. Es un término general que incluye la medición de algunos compuestos volátiles que se generan como consecuencia de los procesos de deterioro de los productos pesqueros, como la trimetilamina, dimetilamina, amoniaco y otros compuestos nitrogenados básicos volátiles. El protocolo descrito a continuación es un procedimiento analítico de referencia para determinar la concentración de nitrógeno de bases nitrogenadas volátiles en pescados frescos y productos de la pesca.

## 2 Introducción

El pescado recién capturado es un alimento altamente deseado por su sabor y alto valor nutritivo; sin embargo, el pescado fresco es extremadamente susceptible al deterioro. El pescado se altera como consecuencia de la combinación de ciertas reacciones químicas, la actividad enzimática endógena y por el crecimiento microbiano. La alteración del pescado almacenado y, por tanto la pérdida de calidad, puede ocasionar el desarrollo de olores y sabores desagradables, textura excesivamente blanda, pérdida de la capacidad de retención de agua, etc. El sabor y el aroma característicos del pescado deteriorado vienen dados por los productos metabólicos de la actividad de los microorganismos, que utilizan los constituyentes solubles en agua de los tejidos para desarrollarse.

En el estudio del proceso de deterioro del pescado se utilizan diferentes índices químicos, como la determinación del contenido en bases volátiles totales, trimetilamina (TMA) o aminas biógenas, así como la evaluación de la oxidación lipídica mediante el índice de peróxidos o el índice del TBA. La determinación de las bases volátiles es uno de los análisis más utilizados, ya que es relativamente sencillo y rápido de realizar. Estos compuestos volátiles aparecen en los últimos estadios del deterioro, por lo que son considerados poco confiables para la evaluación de la calidad del pescado durante los primeros días de almacenamiento [1], aunque son muy útiles para detectar grados de deterioro más avanzados.

El término general de nitrógeno básico volátil total (NBVT) incluye todas aquellas bases nitrogenadas volátiles, como son la trimetilamina (producida por el deterioro bacteriano), dimetilamina (producida por enzimas autolíticas durante el almacenamiento en congelación), amoníaco (producido por desaminación de aminoácidos y catabolitos de nucleótidos) y otros compuestos nitrogenados básicos volátiles asociados con el deterioro de los productos pesqueros. Su determinación expresa cuantitativamente el contenido de bases volátiles de bajo peso molecular.

## 3 Objetivos

Mediante el presente artículo se pretende que el alumno sea capaz de:

- Realizar la determinación analítica de NVBT en pescado.



- Determinar la concentración de NBVT de una muestra de pescado.
- Establecer el grado de deterioro de un pescado a partir de su contenido en NBVT.

## 4 Desarrollo

El procedimiento analítico para la determinación del contenido en nitrógeno básico volátil total (NBVT) descrito a continuación se basa en el método de referencia descrito en el Reglamento (CE) 2074/2005 [2].

### 4.1 Fundamento

La determinación del contenido en NBVT en muestras pescado puede realizarse mediante diferentes metodologías analíticas como son el método de microdifusión, el método de destilación directa o la destilación de un extracto desproteneizado con ácido tricloroacético tal y como describe el CODEX Alimentarius [2]. El método de referencia contemplado en la reglamentación de la Unión Europea consiste en la destilación por medio de arrastre de vapor de agua de un extracto desproteinizado. Tal y como se establece en la legislación, todos los Estados Miembros recomiendan a los laboratorios oficiales la utilización de este método de referencia para llevar a cabo los análisis de rutina.

En la determinación analítica del contenido de NBVT, las bases nitrogenadas volátiles se extraen de la muestra mediante una disolución ácida. Una vez alcalinizado el extracto obtenido, éste se somete a destilación por arrastre de vapor y los componentes básicos volátiles se absorben mediante un receptor ácido. Finalmente, la concentración de NBVT se determina mediante valoración de las bases absorbidas.

Se entiende por concentración de NBVT el contenido de nitrógeno de bases nitrogenadas volátiles determinado mediante el procedimiento descrito. La concentración se expresa como mg de N en 100 g de pescado.

### 4.2 Material y reactivos

#### Reactivos químicos:

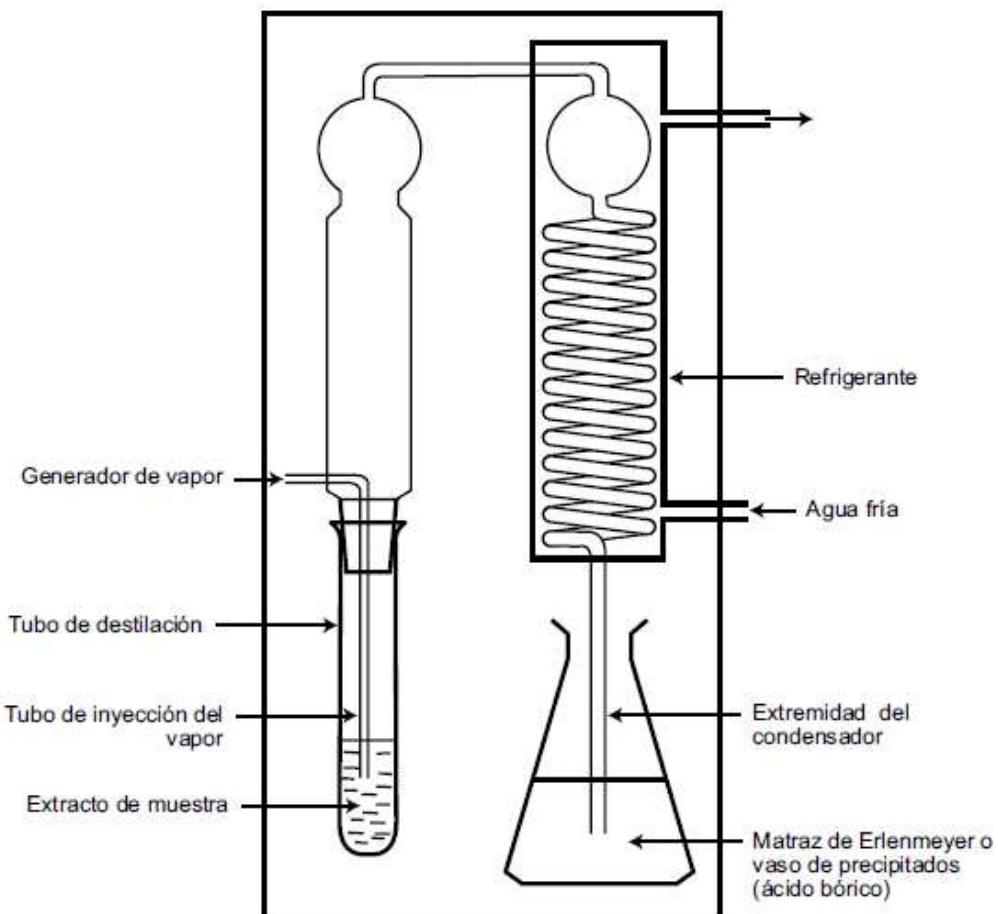
- Ácido perclórico al 6% (p/v)
- Hidróxido sódico al 20% (p/v)
- Ácido bórico al 3% (p/v)
- Ácido clorhídrico 0,01N
- Indicador Shiro T-Shiro: 2 g de rojo de metilo y 1 g de azul de metíleno en 1000 mL de etanol al 95 %

#### Instrumentos y accesorios:

- Vaso de precipitados de 100 mL
- Erlenmeyer de 250 mL



- Probeta de 50 mL
- Sistema de destilación automática por arrastre de vapor (figura 1).
- Homogeizador de alta velocidad (Ultraturrax).
- Bureta de 25 mL para la valoración



**Figura 1.** Esquema del sistema de destilación por arrastre de vapor [2].

### 4.3 Procedimiento

La determinación del contenido de NBVT consta de una desproteinización inicial de la muestra, posterior destilación y de una valoración final del destilado obtenido. Este procedimiento se detalla en el diagrama que aparece en la figura 2.



### 1. Preparación de la muestra

Esta determinación se inicia con la desproteinización de la muestra, para ello se homogeneizan 10 g de pescado, previamente triturado, con 90 mL de la disolución ácido perclórico (6% p/v) durante 1 min empleando un homegeizador de alta velocidad. El homogeneizado obtenido se centrifuga a 3000 rpm durante 5 min y el sobrenadante se filtra a través de papel de filtro, obteniéndose así el extracto de la muestra.

### 2. Destilación por arrastre de vapor

En un tubo de destilación tipo Kjeldahl se introducen 50 mL del filtrado y se adicionan unas gotas de fenoftaleína para comprobar posteriormente que el extracto está suficientemente alcalinizado. Los tubos se llevan a la unidad de destilación, donde se adicionan 6,5 mL de una disolución acuosa de NaOH (20% p/v) y se destilan durante 10 min. El destilado se recoge sobre 100 mL de la disolución acuosa de ácido bórico (3% p/v).

La destilación tiene que haber sido previamente regulada para conseguir que se produzcan unos 100 mL de destilado en los 10 min establecidos.

### 3. Ensayo en blanco

Paralelamente, se realiza un ensayo de blanco donde se destilan 50 mL de la disolución acuosa de ácido perclórico (6% p/v) en lugar de los 50 mL del extracto de la muestra. Se procederá de manera análoga a la descrita para la muestra.

### 4. Titulación

Finalmente, la disolución recogida se valora con ácido clorhídrico 0,01 N, utilizando Shiro T-Shiro como indicador.

### 5. Cálculo de NBVT

La concentración de NBVT (mg N/100 g muestra) se calcula a partir del volumen de clorhídrico empleado en la valoración del destilado recogido, mediante la siguiente ecuación:

$$\text{mg N/100 g muestra} = \frac{(V_m - V_b) \cdot 0,14 \cdot 2 \cdot 100}{M}$$

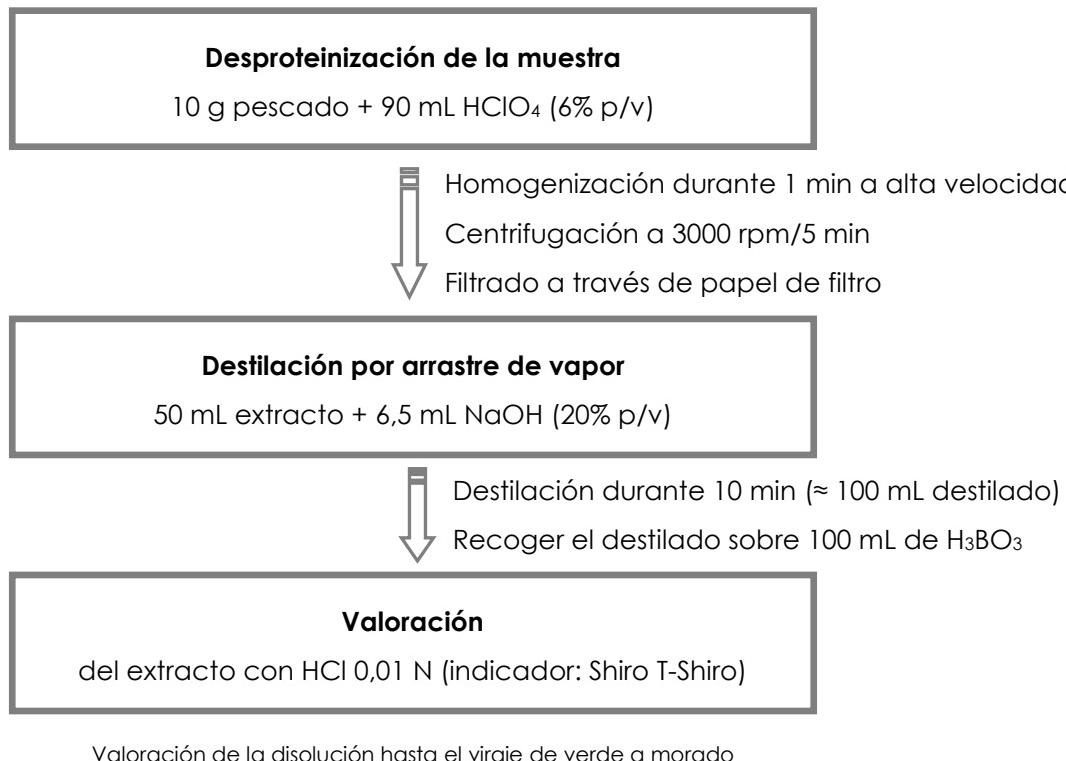
**Ecuación 1.** Cálculo de la concentración de NBVT en la muestra.

donde:

$V_m$  = volumen de ácido clorhídrico empleado en la valoración de la muestra (mL).

$V_b$  = volumen de ácido clorhídrico empleado en la valoración del blanco (mL).

M = masa de la muestra (g).



**Figura 2.** Diagrama del procedimiento de análisis del contenido de NBVT en muestras de pescado.

#### 4.4 Interpretación de los resultados

Según establece la legislación de la UE, "los productos pesqueros no transformados se consideran impropios para el consumo humano cuando, habiendo el examen organoléptico suscitado dudas sobre su frescura, el análisis químico demuestre que se han superado los límites de NBVT establecidos en la legislación" [3].

Debido a la variabilidad que existe entre las diferentes especies de pescado, no existe un límite de NBVT único para todos los productos de la pesca. La legislación de la Unión Europea únicamente considera valores de aceptación para determinadas especies de pescado:

a) *Sebastes spp., Helicolenus dactylopterus, Sebastichthys capensis*

**25 mg de nitrógeno/100 g de carne.**



b) Especies que pertenezcan a la familia de los *Pleuronectidae* (excepto el fletán: *Hippoglossus* spp.):

**30 mg de nitrógeno/100 g de carne.**

c) *Salmo salar*, especies que pertenezcan a la familia de los *Merlucciidae*, especies que pertenezcan a la familia de los *Gadidae*:

**35 mg de nitrógeno/100 g de carne**

d) productos de la pesca enteros utilizados directamente en la preparación de aceite de pescado destinado al consumo humano:

**60 mg de nitrógeno/100 g de producto**

Debido a la variabilidad entre las diferentes especies de pescado, y a la espera de una armonización de estos límites por parte de la Unión Europea para establecer nuevos límites, en algunas ocasiones se pueden utilizar valores orientativos sobre la calidad y/o grado de deterioro en aquellas especies y productos de la pesca que no aparecen contemplados en la legislación. En este sentido, pueden utilizarse como referencia los siguientes valores:

a) Otras especies de pescado fresco:

Escualos: 50 – 70 mg/100 g

Resto de las especies: 23 – 30 mg/100 g

b) Pescados ahumados y salazones dependiendo del grado de maduración del producto hasta 80 mg/100 g.

c) Conservas de pescado que pueden clasificarse orientativamente según las siguientes categorías:

- Buena calidad: 40 – 50 mg/100 g
- Corrientes: 50 – 60 mg/100 g
- Mediocres: 60 – 70 mg/100 g
- 

d) Crustáceos donde se consideran los siguientes valores de referencia:

- Buena calidad: < 30 mg/100 g
- Calidad media: 30 – 40 mg/100 g
- Menor calidad: 40 – 60 mg/100 g

## 5 Cierre

A lo largo de este objeto de aprendizaje hemos visto cómo llevar a cabo la determinación analítica del contenido de NBVT en una muestra de pescado. A



partir de los resultados obtenidos podemos evaluar el estado de deterioro del pescado y establecer la calidad de otros productos de la pesca.

## 6 Bibliografía

[1] FAO (1998). "El Pescado Fresco: Su Calidad y Cambios de su Calidad". FAO DOCUMENTO TÉCNICO DE PESCA 348. Editado por H.H. Huss, Laboratorio Tecnológico Ministério de Pesca Dinamarca, 1998. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/V7180S/v7180s00.html>

[2] REGLAMENTO (CE) no 2074/2005 DE LA COMISIÓN de 5 de diciembre de 2005 por el que se establecen medidas de aplicación para determinados productos con arreglo a lo dispuesto en el Reglamento (CE) no 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo y para la organización de controles oficiales con arreglo a lo dispuesto en los Reglamentos (CE) no 854/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo y (CE) no 882/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, se introducen excepciones a lo dispuesto en el Reglamento (CE) no 852/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo y se modifican los Reglamentos (CE) no 853/2004 y (CE) no 854/2004.

[3] REGLAMENTO (CE) No 1022/2008 DE LA COMISIÓN de 17 de octubre de 2008 por el que se modifica el Reglamento (CE) no 2074/2005 en lo que respecta a los valores límite de nitrógeno básico volátil total (NBVT)